

*Prosiding Seminar Nasional Penelitian, Pendidikan dan Penerapan MIPA,
Fakultas MIPA, Universitas Negeri Yogyakarta, 16 Mei 2009*

BAKTERI YANG BERSIMBIOSIS DENGAN LANDAK LAUT DI PANTAI MENTIGI, LOMBOK BARAT

Novi Febrianti*, Galuh Tresnani**

** Program Studi Pendidikan Biologi Jurusan PMIPA FKIP Universitas Ahmad Dahlan*

*** Program Studi Biologi Fakultas MIPA Universitas Mataram*

Abstrak

Indonesia merupakan negara kepulauan yang mempunyai wilayah laut yang sangat luas. Kekayaan sumber daya hayati yang ada di laut sangat beragam termasuk kekayaan jenis-jenis mikrobia. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jenis-jenis bakteri yang bersimbiosis dengan landak laut di Pantai Mentigi, Lombok Barat. Pengambilan sampel landak laut dilakukan pada daerah terumbu karang dan padang lamun. Landak laut yang didapat diidentifikasi jenisnya. Isolasi bakteri yang bersimbiosis dengan landak laut dilakukan dengan terlebih dahulu menanam sampel jaringan landak laut pada media NA sea water, kemudian diinkubasi pada suhu kamar selama 48 jam. Bakteri yang tumbuh diisolasi dengan metode goresan. Karakterisasi isolat bakteri dilakukan dengan mengamati morfologi koloni dan sel bakteri serta karakter fisiologis dan biokimianya. Hasil penelitian ini mendapatkan lima isolat bakteri yang bersimbiosis dengan tiga spesies landak laut (*Diadema* sp, *Diadema setosum*, *Tripneustus gratilla*). Kelima isolat mempunyai karakter gram positif, bentuk batang, motil, membentuk endospora, aerob dan katalase positif. Identifikasi dengan metode profile matching menyimpulkan bahwa kelima isolat adalah anggota dari genus *Bacillus*.

Kata kunci: bakteri, simbiosis, landak laut, *Bacillus*

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara kepulauan yang mempunyai wilayah laut yang sangat luas. Laut merupakan ekosistem yang mempunyai keanekaragaman biota yang sangat besar. Kekayaan sumber daya hayati yang ada di laut sangat beragam, termasuk kekayaan jenis-jenis mikrobia.

Bakteri merupakan salah satu jenis mikrobia yang jumlahnya terbesar dan hidup pada berbagai tipe habitat di laut. Bakteri dapat hidup permukaan air laut, melayang-layang di dalam air, pada sedimen dan juga hidup pada tubuh hewan laut. Interaksi bakteri dengan hewan laut terbagi dalam dua kategori, yaitu simbiosis dan patogenesis. Pada interaksi simbiosis yang mutualistik bakteri dan inangnya mendapatkan keuntungan. Bagi bakteri simbiosis akan mendapatkan tempat hidup, sumber makanan dan kemungkinan jalur reproduksi dan penyebaran (Hunter-Cevera, *et al.*, 2005). Keuntungan bagi inangnya antara lain bakteri memberikan sumber nutrisi berupa karbon organik (Lesser & Blakemore, 1990) dan menghasilkan senyawa metabolit baru terutama senyawa antimikrobia yang sangat berguna untuk melindungi inangnya dari mikrobia patogen. Senyawa metabolit baru yang dihasilkan oleh bakteri simbiosis juga berpotensi untuk dapat diaplikasikan dalam industri, terutama industri farmasi (Hunter-Cevera, *et al.*, 2005; Zhang, *et al.* 2005).

Berbagai penelitian telah meneliti jenis-jenis bakteri yang bersimbiosis dengan berbagai jenis invertebrata laut, antara lain dengan sponge (Kanagasabhapathy, *et al.*, 2004), terumbu karang (Lam, 2006) dan bintang laut (Lesser & Blakemore, 1990). Pada penelitian ini ingin diketahui jenis-jenis bakteri yang bersimbiosis dengan landak laut di Pantai Mentigi, Lombok Barat. Data yang didapat dari penelitian ini selain berguna sebagai bank data keanekaragaman bakteri laut di Indonesia, juga diharapkan isolat bakteri yang didapat dapat dikembangkan untuk penelitian lanjutan tentang potensinya sebagai penghasil senyawa metabolit baru.

METODE PENELITIAN

Penelitian yang dilakukan mencakup beberapa kegiatan antara lain pengambilan sampel landak laut, identifikasi jenis landak laut yang didapat, isolasi bakteri yang bersimbiosis dengan landak laut, karakterisasi bakteri yang meliputi pengamatan morfologi koloni, morfologi sel serta serangkaian uji biokimia serta identifikasi bakteri.

Pengambilan sampel landak laut & identifikasi jenisnya

Pengambilan sampel landak laut dilakukan di daerah terumbu karang dan padang lamun yang berada pada daerah pasang surut pantai Mentigi, Lombok Barat. Landak laut yang didapat kemudian diidentifikasi untuk menentukan jenisnya. Landak laut ini kemudian dibawa ke laboratorium untuk isolasi bakteri yang bersimbiosis dengannya.

Isolasi bakteri yang bersimbiosis dengan landak laut

Isolasi bakteri dari tubuh landak laut difokuskan pada daerah mulut dan ambulakral. Jaringan pada bagian tersebut dipotong dengan ukuran 1cm x 1cm. Cuplikan jaringan dicuci dengan alkohol 70% selama 15 detik, dilanjutkan dengan pencucian pada tiga seri akuades steril masing-masing selama 3 detik.

Sampel jaringan yang telah dicuci ditanam pada media *NA sea water* lalu diinkubasi pada suhu kamar selama 48 jam. Bakteri yang tumbuh diisolasi dengan metode goresan pada media *NA sea water*. Koloni-koloni yang berbeda dimurnikan beberapa kali sampai didapatkan isolat murni. Koloni isolat murni tersebut yang akan digunakan untuk pengamatan morfologi koloni, sel serta karakter fisiologis dan biokimianya.

Pengamatan morfologi koloni dan sel bakteri

Pengamatan morfologi koloni meliputi pengamatan bentuk, warna, elevasi, tepi dan struktur dalam koloni. Pengamatan bentuk, warna, dan elevasi koloni dilakukan secara langsung dengan mata telanjang, sedangkan pengamatan tepi dan struktur dalam koloni dilakukan dengan menggunakan mikroskop cahaya (*dissecting microscope*).

Pengamatan morfologi sel dilakukan dengan cara pengecatan gram. Pengamatan dilakukan menggunakan mikroskop perbesaran 1000 kali menggunakan minyak imersi. Bakteri gram positif berwarna ungu, sedangkan bakteri gram negatif berwarna merah.

Uji biokimia

1. Uji katalase

Isolat bakteri digoreskan pada gelas benda, lalu larutan H_2O_2 30% diteteskan di atasnya. Reaksi positif ditandai dengan terbentuknya gelembung gas (Bangun, 1989)

2. Uji urease

Medium urea agar miring diinokulasi dengan satu usa kultur umur 24 jam. Biakan diinkubasi pada suhu optimum selama 1-7 hari. Reaksi positif ditandai dengan perubahan warna indikator dalam medium dari kuning menjadi merah muda atau merah (Bangun, 1989)

3. Uji penggunaan sitrat

Isolat bakteri diinokulasi secara goresan pada medium *simmons citrate* agar miring dan diinkubasi selama 24-48 jam. Reaksi positif ditandai oleh perubahan warna media dari hijau menjadi biru (Bangun, 1989)

4. Uji pembentukan indol

Isolat bakteri diinokulasikan pada medium pepton cair dan diinkubasi pada suhu kamar selama 24 jam. Setelah inkubasi ditambahkan 1 ml reagen Kovac. Kovac. Reaksi positif ditunjukkan ditunjukkan dengan terbentuknya cincin berwarna merah ungu (Bangun, 1989).

5. Uji fermentasi karbohidrat

Isolat bakteri diinokulasikan pada medium nutrisi cair yang ditambah 5gr/l masing-masing karbohidrat (glukosa, maltosa, laktosa, sukrosa, manitol) lalu diinkubasi selama 24 jam. Reaksi positif ditandai dengan terjadinya perubahan warna dari ungu menjadi putih keruh (Bangun, 1989)

6. Uji sifat aerobisitas

Isolat bakteri diinokulasikan secara tusukan pada medium nutrisi agar tegak. Bila pertumbuhan bakteri terjadi pada seluruh media berarti bakteri tersebut bersifat fakultatif anaerob, tetapi bila

pertumbuhan hanya terjadi pada permukaan agar berarti bakteri tersebut bersifat aerob (Bangun, 1989)

7. Uji motilitas

Isolat bakteri ditusukkan ke dalam tabung yang berisi 5 ml media nutrisi agar yang konsentrasinya agarnya dikurangi menjadi 3gr/l (semisolid). Bakteri bersifat motil bila pertumbuhannya menyebar ke seluruh media [(Bangun, 1989).

Identifikasi Isolat Bakteri

Identifikasi bakteri yang bersimbiosis dengan landak laut dilakukan dengan metode *profile matching* menggunakan Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (Holt, *et al.*, 1994)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Jenis landak laut yang didapat

Berdasarkan hasil pengambilan sampel landak laut pada daerah terumbu karang dan padang lamun di Pantai Mentigi Lombok Barat didapatkan 19 ekor landak laut. Setelah dilakukan identifikasi diketahui bahwa kesembilan belas landak laut tersebut berasal dari tiga spesies, yaitu *Diadema* sp, *Diadema setosum* dan *Tripneustus gratilla*.

Isolat bakteri yang bersimbiosis dengan landak laut dan karakteristik koloninya

Dari ketiga jenis landak laut yang didapat kemudian dilakukan isolasi bakteri yang bersimbiosis. Hasil penelitian mendapatkan lima isolat bakteri yang bersimbiosis dengan ketiga jenis landak laut di Pantai Mentigi, Lombok Barat, yaitu isolat DPHM, DSM1, DSM2, TGM dan TGA (Tabel 1).

Lima isolat yang didapat kemudian diamati morfologi koloninya. Hasil pengamatan morfologi koloni menunjukkan bahwa empat isolat mempunyai bentuk koloni yang hampir sama yaitu bulat, kecuali isolat DPHM yang mempunyai bentuk *curled*. Semua isolat mempunyai elevasi rata. Empat isolat mempunyai tepi koloni *entire*, kecuali isolat DPHM yang tepi koloninya *lobate*. Warna koloni empat isolat krem, kecuali isolat TGA yang koloninya berwarna putih. Struktur dalam kelima isolat bervariasi, isolat DSM1 dan TGM mempunyai struktur dalam *translucent*, isolat DSM2 dan TGA struktur dalamnya *opaque*, sedangkan isolat DPHM mempunyai struktur dalam *filamentous* (Tabel 1).

Tabel 1. Isolat bakteri yang bersimbiosis dengan landak laut dan morfologi koloninya

No	Sumber isolat (Jenis landak laut)	Kode Isolat	Morfologi koloni				
			Bentuk	Elevasi	Tepi	Warna	Struktur dalam
1	<i>Diadema</i> sp (hitam)	DPHM	<i>Curled</i>	datar	<i>lobate</i>	krem	<i>filamentous</i>
2	<i>Diadema setosum</i>	DSM1	Bulat	datar	<i>entire</i>	krem	<i>translucent</i>
3	<i>Diadema setosum</i>	DSM2	Bulat	datar	<i>entire</i>	krem	<i>opaque</i>
4	<i>Tripneustus gratilla</i>	TGM	Bulat	datar	<i>entire</i>	krem	<i>translucent</i>
5	<i>Tripneustus gratilla</i>	TGA	Bulat	datar	<i>entire</i>	putih	<i>opaque</i>

Karakteristik sel dan biokimia isolat bakteri

Kelima isolat mempunyai bentuk sel yang sama yaitu batang. Susunan sel kelima isolat semuanya berpasangan. Kelima isolat mempunyai sifat gram positif dan juga bersifat motil. Uji ketahanan terhadap panas menunjukkan bahwa semua isolat memiliki endospora (Tabel 2).

Pengujian sifat biokimia isolat dalam menghasilkan enzim menunjukkan bahwa kelima isolat bersifat katalase positif, urease negatif. Uji pembentukan indol menunjukkan bahwa semua isolat tidak mampu membentuk indol dari triptofan. Kelima isolat mampu membentuk asetil-metil karbinol dari glukosa berdasarkan hasil uji Voges-proskauer. Semua isolat juga mampu menggunakan sitrat sebagai sumber karbon (Tabel 2).

Uji fermentasi karbohidrat menunjukkan bahwa semua isolat mampu menfermentasi glukosa dan laktosa, tapi tidak mampu menfermentasi sukrosa. Empat isolat tidak mampu menfermentasi manosa, kecuali isolat DPHM. Kemampuan menfermentasi maltosa dimiliki oleh empat isolat, kecuali isolat TGA. Uji sifat aerobisitas menunjukkan bahwa kelima isolat semuanya bersifat aerob (Tabel 2).

Tabel 2. Morfologi sel dan sifat biokimia isolat bakteri

Karakter yang diamati	Kode isolat				
	DPHM	DSM1	DSM2	TGM	TGA
A. Morfologi sel					
Bentuk	Batang	Batang	Batang	Batang	Batang pendek
Susunan sel	Berpasangan	Berpasangan	Berpasangan	Berpasangan	Berpasangan
Reaksi gram	Positif	Positif	Positif	Positif	Positif
Motilitas	+	+	+	+	+
Pembentukan endospora	+	+	+	+	+
B. Karakter biokimia					
Katalase	+	+	+	+	+
Urease	+	+	+	+	+
Simon citrat	+	+	+	+	+
Pembentukan indol	-	-	-	-	-
Methyl red	-	-	-	-	-
Voges preskauer	-	-	-	-	-
Fermentasi karbohidrat:					
- glukosa	+	+	+	+	+
- laktosa	+	+	+	+	+
- maltosa	+	+	+	+	-
- sukrosa	-	-	-	-	-
- manosa	+	-	-	-	-
Aerobisitas	Aerob	Aerob	Aerob	Aerob	Aerob

Identifikasi isolat bakteri

Hasil identifikasi dengan metode *profile matching* menggunakan Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (Holt, *et al.*, 1994). menunjukkan bahwa karakter gram negatif, bentuk batang, membentuk endospora, motil, aerob dan katalase positif adalah ciri-ciri dari genus *Bacillus*.

Pembahasan

Karakterisasi kelima isolat bakteri yang bersimbiosis dengan landak laut menunjukkan bahwa semua isolat mempunyai beberapa karakter yang sama, yaitu gram positif, bentuk batang, motil, membentuk endospora, aerob dan katalase positif. Berdasarkan persamaan karakter di atas, identifikasi dengan metode *profile matching* menggunakan *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* (Holt, *et al.*, 1994) menyimpulkan bahwa kelima isolat merupakan anggota genus *Bacillus*. Identifikasi sampai tingkat spesies sulit dilakukan karena memerlukan uji biokimia yang

kompleks. Metode terbaru untuk identifikasi *Bacillus* sampai ke tingkat spesies dapat dilakukan dengan menganalisis sekuen 16S rRNA-nya.

Genus *Bacillus* adalah salah satu anggota kelompok bakteri yang memiliki endospora. Salah satu jenis bakteri yang juga memiliki endospora adalah *Clostridium*. Menurut (Bower, 1996) bakteri *Clostridium* dari jenis *C. perfringens* dan *C. sordelli* adalah bakteri patogen yang menyebabkan kematian landak laut. Dari penelitian ini diketahui bahwa *Bacillus* yang sama-sama memiliki endospora juga melakukan interaksi dengan landak laut, tetapi interaksi tersebut tidak merugikan landak laut. Menurut (Hunter-Cevera., *et al.*, 2005) interaksi antara mikrobia dan invertebrata laut dapat memberikan keuntungan bagi mikrobia berupa tempat hidup, sumber makanan dan kemungkinan juga jalur reproduksi dan penyebaran. Interaksi juga dapat memberikan berbagai keuntungan bagi inangnya.

Hal yang menarik dari penelitian ini adalah bakteri-bakteri yang ditemukan bersimbiosis dengan ketiga jenis landak laut di pantai Mentigi, Lombok Barat semuanya berasal dari genus *Bacillus*. Menurut (Austin, 1992) bakteri-bakteri dari genus *Bacillus* merupakan anggota dari prokaryot yang hidup di laut. Unkless (1977) dalam (Austin, 1992) menemukan beberapa jenis bakteri yang bersimbiosis dengan landak laut yang sehat, yaitu *Acinetobacter*, *Cytophaga-Flexibacter*, *Enterobacteriaceae*, *Micrococcus*, *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Flavobacterium* dan *Vibrio*. *Bacillus* tidak ditemukan dalam daftar ini. Perbedaan kondisi lingkungan sangat mempengaruhi jenis bakteri yang bersimbiosis dengan landak laut.

Menurut (Austin, 1992) hubungan antara mikrobia laut dengan makroorganisme laut dapat berupa asosiasi yang erat antara mikrobia tersebut dengan permukaan luar organisme. Asosiasi yang erat ini memungkinkan terbentuknya koloni pada permukaan luar organisme tersebut. Koloni yang terbentuk dapat menghambat kolonisasi mikrobia lain. Berdasarkan hal ini diduga *Bacillus* telah membentuk koloni pada permukaan luar tubuh landak laut. Koloni *Bacillus* ini telah menghambat mikrobia lain untuk tumbuh.

Berdasarkan laporan Hunter-Cevera., *et al.*, (2005) banyak senyawa bioaktif yang diisolasi dari invertebrata laut ternyata diproduksi oleh mikrobia simbiotiknya. Rosenfeld & Zobell (1947) dalam (Austin, 1992) menemukan bakteri laut jenis *Bacillus* termasuk dalam golongan mikrobia penghasil antibiotik. Brock, *et al.*, (1994) dan Prescott, *et al.*, (1999) menjelaskan dengan lebih rinci bahwa anggota-anggota genus *Bacillus* menghasilkan beberapa jenis antibiotik, antara lain *bacitracin*, *gramicidin* dan *polymyxin*. Berdasarkan hal ini diduga bakteri *Bacillus* yang bersimbiosis dengan landak laut di pantai Mentigi juga menghasilkan antibiotik sehingga menghambat mikrobia lain untuk bersimbiosis. Kemungkinan juga adanya *Bacillus* yang bersimbiosis dengan landak laut ini menyebabkan bakteri-bakteri patogen tidak dapat tumbuh menginfeksi landak laut.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil karakterisasi dan identifikasi disimpulkan bahwa kelima isolat bakteri yang bersimbiosis dengan landak laut di pantai Mentigi, Lombok Barat merupakan anggota genus *Bacillus*.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengidentifikasi isolat *Bacillus* yang didapat sampai ke tingkat spesies dan mengeksplorasi potensi isolat *Bacillus* sebagai penghasil senyawa bioaktif baru khususnya senyawa antibiotik.

DAFTAR PUSTAKA

Austin, B, 1992, *Marine Microbiology*, Cambridge University Press, New York.

Bangun, A., 1989, *Isolasi dan Identifikasi*, PAU Bioteknologi UGM, Yogyakarta

Bower, S.M., 1996. *Synopsis Of Infection Diseases and Parasites Of Commercially Exploited Shellfish : Black Sea Urchin Plague and Bald Sea Urchin Disease*. http://www.pac.dfo-mpo.gc.ca/sci/shelldis/pages/bsupsu_e.htm.

- Brock, T.D., M.T. Madigan, J.M. Martinko, J. Parker, 1994, *Biology of Microorganisms*, Prentice Hall, Englewood Cliffs, New York.
- Holt, G.J., Krieg R.N., Sneath A.H.P., Staley T.J., Williams T.S., 1994, *Bergey's Manual Of Determinative Bacteriology*, 9th ed, Lippincott Williams & Wilkins.
- Hunter-Cevera, J, D. Karla, M. Buckley, 2005, *Marine Microbial Diversity: The Key to Earth's Habitability*, American Society of Microbiology, Boston.
- Kanagasaphapathy, M., K. Nagata, Y. Fujita, T. Tamura, H. Okamura, S. Nagata, 2004, *Antibacterial Activity of The Marine Sponges Psammopsilla purpurea: Importance of its Surface-Associated Bacteria*
- Lam, K.S., 2006, *Discovery of Novel Metabolites from Marine Actinomycetes*, Current Opinion in Microbiology 9:245-251.
- Lesser, M.P. & R.P. Blakemore, 1990, *Description of a Novel Symbiotic Bacterium from the Brittle Star, Amphipolis squamata*, Applied and Environmental Microbiology Vol 56 p 2436-2440.
- Paerl, H.W & L.E. Prufert, 1987, *Oxygen Poor Microzones as Potential Sites of Microbial N₂ Fixation in Nitrogen-Depleted Aerobic Marine Waters*, Applied & Environ. Microbiol. Vol.53 No.5 pp 1078-1087.
- Prescott, L.M., J.P. Harley, and D.A. Klein, 1999. *Microbiology*, 4th edition, WBC Mc Graw-Hill, New York.
- Zhang, L., R. An, J. Wang, N. Sun, S. Zhang, J. Hu, J. Kuai, 2005, *Exploring Novel Bioactive Compounds from Marine Microbes*, Current Opinion in Microbiology 8:276-281.